

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL  
Ministério do Desenvolvimento da Indústria e do Comércio  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 9610256-0 A**

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>.:  
C12P 7/62  
C08G 63/89

(22) Data de Depósito 16/08/1996

(43) Data de Publicação 06/07/1999  
(RPI 1487)

(54) Título **EXTRAÇÃO DE SOLVENTE DE POLIIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE BIOMASSA, FACILITADA PELA UTILIZAÇÃO DE UM NÃO-SOLVENTE MARGINAL PARA PHA.**

(30) Prioridade Unionista 21/08/1995 US 60/002 567, 16/02/1996 US 08/601 317

(71) Depositante(s) The Procter & Gamble Company (US)

(72) Inventor(es) Isao Noda

(74) Procurador Vieira De Mello, Werneck Alves - Advogados S/C

(86) Pedido Internacional. PCT US96/13261 de 16/08/1996

(87) Publicação Internacional WO 97/07229 de 27/02/1997

(57) Resumo EXTRAÇÃO DE SOLVENTE DE POLIIDROXIALCANOATOS A PARTIR DE BIOMASSA, FACILITADA PELA UTILIZAÇÃO DE UM NÃO-SOLVENTE MARGINAL PARA PHA" A presente invenção refere-se a um processo para separar poliidroxialcanoato (PHA) a partir de uma biomassa que compreende o PHA, sendo que o processo compreende (a) tratar a biomassa com um solvente de PHA e um não-solvente marginal para PHA, (b) remover qualquer biomassa insolúvel deixando atrás desta maneira uma solução de PHA e não-solvente marginal para PHA, e (c) remover o solvente de PHA da solução, resultando desta maneira em uma suspensão de PHA precipitado no não-solvente marginal para PHA. Opcionalmente, o processo compreende ainda remover o não-solvente marginal para PHA, deixando atrás desta maneira o PHA. A presente invenção refere-se ainda a suspensão e ao PHA produzindo pelo processo

**EXTRAÇÃO DE SOLVENTE DE POLIIDROXIALCANOATOS A PARTIR**  
**DE BIOMASSA, FACILITADA PELA UTILIZAÇÃO DE UM NÃO-**  
**SOLVENTE MARGINAL PARA PHA**

**Campo**

5                   Refere-se a presente invenção a processos  
para extração de componentes específicos a partir de  
outros componentes de biomassa. Mais especificamente,  
a presente invenção relaciona-se com a extração de um  
poliidroxialcanoato a partir de um sistema biológico,  
10 tal como uma planta ou bactéria, pela realização da ex-  
tração com um solvente; sendo o processo de extração  
facilitado pela utilização de um não-solvente marginal  
para PHA.

**Antecedentes**

15                   Os polímeros de utilidade são produzidos  
tipicamente a partir de fontes petroquímicas por meios  
sintéticos que são amplamente conhecidos. Não obstan-  
te, recentes desenvolvimentos na tecnologia resultaram  
na esperança de novos recursos de polímeros de utilida-  
20 de. Particularmente promissora é a produção de resinas  
plásticas utilizando-se os organismos vivos  
("bioplástica"), incluindo as bactérias e as plantas de  
cultivo manipuladas geneticamente, as quais são proje-  
tadas para produzir polímeros tais como poliidroxialca-  
25 noato (PHA); um número de bactérias que produzem natu-  
ralmente PHA são igualmente fontes promissoras de PHA.  
(Vide, por exemplo, Poirier, Y., D.E. Dennis, K. Klop-  
rens e C. Somerville, "Polyhydroxybutyrate, a biodegra-

B19810055

dable thermoplastic, produced in transgenic plants",  
Science, Vol. 256, pp. 520-523 (1992): Publicação de  
Pedido de Patente Mundial N° 95/05472, publicada em 23  
de fevereiro de 1995; e Publicação de Pedido de Patente  
5 Mundial N° 93/02187, publicada em 4 de fevereiro de  
1993; Novel Biodegradable Microbial Polymers, E.A.  
Dawes, ed., NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences  
- Vol. 186, Kluwer Academic Publishers (1990)). Numa  
produção em grande escala, por exemplo, na produção  
10 agrícola, a colheita e purificação desse bioplástico a  
partir de resíduos de biomassa constitui uma etapa da  
maior importância para determinar a viabilidade prática  
dessa tecnologia.

A separação de lipídeos poliméricos tais  
15 como PHA a partir de uma fonte biológica em grande es-  
cala, tal como uma colheita agrícola, não é uma tarefa  
trivial. Os processos de separação convencionais uti-  
lizados extensamente na extração de lipídeos de baixo  
peso molecular, não são práticos de empregar em um pro-  
20 cesso de isolamento de resina. Por exemplo, uma sim-  
ples prensa mecânica é impraticável porque, diferente-  
mente da separação de óleos vegetais a partir de semen-  
tes oleaginosas, os plásticos sólidos não podem ser es-  
premidos para fora da cultura por meio de prensagem me-  
25 cânica.

A separação do PHA por meio de processos  
de sedimentação deverá ser, em princípio, possível.  
Não obstante, a decantação gravitacional simples (força

P 0810256

1-G) em um não-solvente marginal líquido para o PHA é, com efeito, inteiramente impraticável. A taxa de decantação é extremamente baixa. Além disso, essa decantação lenta é facilmente interrompida pelo movimento Browniano das partículas de PHA finas induzido pela flutuação térmica das moléculas de fluido de suspensão que circundam as partículas. Além disso, o período de tempo prolongado requerido para a decantação de partículas de PHA muito finas introduz o problema de contaminação bacteriana e a subsequente biodegradação da suspensão de partículas.

Os processos de extração por solvente conhecidos também são limitados para uma separação do PHA a partir de uma biomassa em grande escala. Um solvente comumente utilizado para a extração do PHA em relação a bactérias é o clorofôrmio. Igualmente descritos para o uso são outros solventes de hidrocarbonetos halogenados, tais como diclorometano, dicloroetano e cloropropano (vide, por exemplo, a patente U.S. Nº 4.562.245, Stgeman, concedida em 31 de dezembro de 1985; a patente U.S. Nº 4.324.907, Senior, Wright e Alderson, concedida em 13 de abril de 1982; a patente U.S. Nº 4.310.684, Vanlauten e Gilain, concedida em 12 de janeiro de 1982; a patente U.S. Nº 4.705.604, Vanlauten e Gilain, concedida em 10 de novembro de 1987; o Pedido de Patente Européia 036 699, Holmes e Wright, publicado em 3 de setembro de 1981; e o Pedido de Patente Alemã 239 609, Schmidt, Schmiechen, Rehm e Trennert, publicado em 10

P19810256

de janeiro de 1986). No processo de separação do solvente, a solução de PHA concentrada freqüentemente forma um fluido de viscosidade muito alta e por vezes até mesmo um gel; o qual pode ser extremamente difícil de processar. Além disso, esses solventes são potencialmente prejudiciais para a saúde e ambiente se não forem plenamente removidos do PHA. Conseqüentemente, o uso de uma grande quantidade desses solventes que resultam na formação de soluções ou géis altamente viscosos, especialmente próximo ao local da colheita, seria indesejável.

Com base no exposto, existe uma necessidade de um processo simples e econômico para a recuperação de bioplásticos a partir de uma fonte biológica em grande escala. Um processo desses deverá ser preferencialmente adaptável facilmente para o uso na produção baseada em fermentação padrão para PHA bacteriano. Um processo desses também deverá ser de preferência facilmente adaptável como uma parte integral da produção agrícola de produtos relacionados, por exemplo, óleo e farinha no caso de sementes oleosas.

Constitui, conseqüentemente, um objetivo da presente invenção, proporcionar um processo que seja adequado para recuperar bioplásticos a partir de uma biomassa.

Estes e outros objetivos da presente invenção tornar-se-ão evidentes para aqueles versados na técnica a partir de uma leitura da presente exposição

P19810285

com as reivindicações anexas.

### Sumário

A presente invenção refere-se a um processo adequado para separar poliidroxiálcanoato (PHA) a partir de uma biomassa que compreende o PHA, sendo que o processo compreende: a) tratar uma biomassa com um solvente de PHA e um não-solvente marginal para o PHA; b) remover qualquer biomassa insolúvel, deixando assim para trás uma solução de PHA e de não-solvente marginal para PHA; e c) remover o solvente de PHA a partir da solução, resultando desta maneira em uma suspensão de PHA precipitado no não-solvente marginal para PHA. Op-  
cionalmente, o processo compreende ainda remover o não-solvente marginal para PHA, deixando assim para trás o PHA. A presente invenção refere-se ainda à suspensão e ao PHA produzido pelo processo.

Esse processo atende a necessidade de um processo relativamente simples e econômico para recuperar bioplásticos a partir de uma fonte biológica em grande escala.

### Descrição Breve do Desenho

A Figura 1 expõe um esquema de uma concretização da invenção, em que um não-solvente marginal para PHA proveniente de uma fonte externa é adicionado (e posteriormente removido) com a finalidade de facilitar a extração do PHA.

### Descrição Detalhada

Segue-se uma lista de definições para os

P 19810255

termos utilizados neste contexto.

"Alcano" significa um hidrocarboneto saturado que é dotado da fórmula geral  $C_nH_{2n+2}$ ; de preferência, n varia entre cerca de 3 e até cerca de 20; com  
5 maior preferência n varia entre cerca de 6 e até cerca de 16.

"Alquenila" significa uma cadeia que contém carbono, de preferência entre cerca de C2 até cerca de C24, com maior preferência entre cerca de C2 até  
10 cerca de C19; que pode ser direta, ramificada ou cíclica, de preferência direta ou ramificada, com maior preferência direta; substituída (mono- ou poli-) ou não substituída; e monoinsaturada (isto é, uma ligação dupla ou tripla na cadeia), ou polissaturada (isto é, du-  
15 as ou mais ligações duplas na cadeia, duas ou mais ligações triplas na cadeia, ou uma ou mais ligações duplas e uma ou mais ligações triplas na cadeia), de preferência monoinsaturadas.

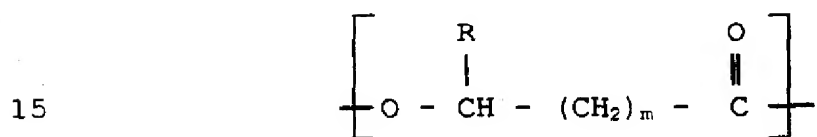
"Alquila" significa uma cadeia que contém  
20 carbono, de preferência entre cerca de C1 até cerca de C24, com maior preferência entre cerca de C1 até cerca de C19; que poderá ser direta, ramificada ou cíclica, de preferência direta ou ramificada, com maior preferência direta; substituída (mono- ou poli-) ou não-  
25 substituída; e saturada.

"Compreendendo" significa que outras etapas e outros ingredientes que não afetam o resultado final, poderão ser adicionados. Este termo abrange os

termos "consistindo de" e "consistindo essencialmente de".

"Extração de poliidroxiálcanoato a partir de uma biomassa", além de se referir à extração do PHA particular produzido por uma biomassa que produz um  
5 único PHA, também se refere à extração de um ou mais tipos de PHA quando a biomassa produz mais do que um tipo de PHA.

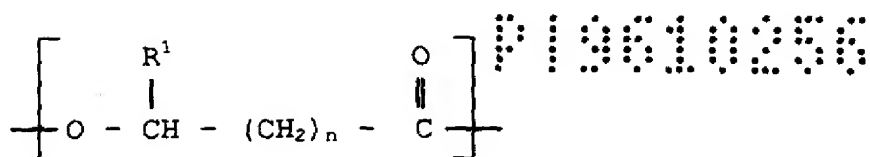
"Poliidroxiálcanoato" e "PHA", significam  
10 um polímero, o qual compreende a seguinte unidade de repetição:



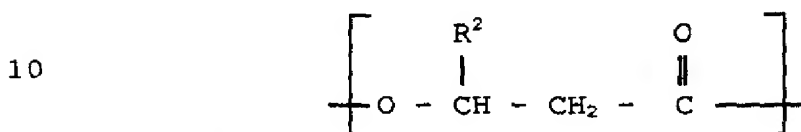
em que R é preferentemente H, alquila ou alquenila; e m varia entre cerca de 1 até cerca de 4. Os termos poliidroxiálcanoato e PHA incluem polímeros que contêm  
20 uma ou mais unidades de repetição diferentes.

Os PHA que podem ser extraídos por meio do processo da presente invenção, preferencialmente são dotados de uma temperatura de fusão ("Tm") de cerca de 80°C ou mais elevada. Com maior preferência, esses  
25 PHAs compreendem pelo menos duas unidades de monômero que se repetem aleatoriamente, em que a primeira unidade de monômero que se repete aleatoriamente é dotada da estrutura





5 em que R<sup>1</sup> é H, alquila C1 a C2, e n é 1 ou 2; a segunda unidade de monômero que se repete aleatoriamente é dotada da estrutura



em que R<sup>2</sup> é alquila C3 a C19 ou alquenila C3 a C19; e em que pelo menos 50% das unidades de monômero de repetição aleatoriamente têm a estrutura da primeira unidade de monômero de repetição aleatoriamente. Com maior preferência, exemplos de PHA de alta cristalinidade que são extraíveis pelo presente processo incluem aquelas expostas no pedido de patente U.S. Número de Série 08/465.046, Noda, depositado em 6 de junho de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/422.008, Noda, depositado em 13 de abril de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/422.009, Noda, depositado em 5 de junho de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/467.373, Noda, depositado em 6 de junho de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/188.271, Noda, depositado em 28 de janeiro de 1994; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/469.969, Noda, depositado em 6 de junho de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/472.353, Noda, deposi-

019510888  
tado em 7 de junho de 1995; no pedido de patente U.S. Número de Série 08/469.269, Noda, depositado em 6 de junho de 1995; e na patente U.S. Nº 5.292.869, Shiotani e Kobayashi, concedida em 8 de março de 1994.

5 "Solvente" significa uma substância capaz de dissolver uma outra substância (soluto) para formar uma mistura (solução dispersada uniformemente sob o nível de dimensão molecular ou iônico.

"Não-solvente" significa uma substância  
10 que é incapaz de dissolver uma outra substância num nível apreciável.

"Não-solvente marginal" significa uma substância que é um não-solvente por si mesmo, não obstante, quando misturada com um solvente, torna-se capaz  
15 de dissolver soluto.

"Precipitante" significa uma substância que é capaz de induzir a precipitação de uma outra substância e/ou enfraquecer o poder de solvência de um solvente. Muito embora um precipitante também seja  
20 considerado um não-solvente, não obstante, um não-solvente nem sempre é um precipitante. Por exemplo, o metanol e o hexano são precipitantes de PHA e não-solventes de PHA; enquanto que o óleo é um não-solvente de PHA, mas um precipitante não muito efetivo de PHA  
25 (muito embora sob concentrações extremamente elevadas, o óleo possa fazer com que o PHA seja precipitado fora da solução).

Todas as percentagens são em mols % da

composição total, a não ser que de outro modo especificamente estabelecido.

Todas as relações são relações em peso, a não ser que de outro modo especificamente estabelecido.

5 A presente invenção, nos seus aspectos de produto e de processo, encontra-se descrita de forma detalhada como exposta em seguida.

#### Biomassa

As fontes a partir das quais o PHA é extraído por intermédio do processo da presente invenção incluem organismos de célula única, tais como bactérias ou fungos e organismos mais elevados, tais como plantas (neste contexto chamadas coletivamente de "biomassa"). Muito embora essa biomassa possa estar na forma de organismos do tipo silvestre, elas são preferentemente espécies manipuladas geneticamente projetadas especificamente para a produção de um PHA específico de interesse para o produtor. Esses organismos manipulados geneticamente são produzidos pela incorporação da informação genética que é necessária para produzir um ou mais tipos de PHA. Tipicamente, essa informação genética será derivada de bactérias que produzem o PHA naturalmente.

As plantas de utilidade na presente invenção incluem qualquer planta projetada geneticamente idealizada para produzir PHA. As plantas preferidas incluem safras agrícolas tais como grãos de cereais, sementes oleaginosas e tubérculos; com maior preferên-

cia, abacate, cevada, beterraba, fava, ~~trigo-sarrado~~, ~~trigo-sarrado~~,  
cenoura, coco, copra, milho (amarelo), caroço de algo-  
dão, abóbora, lentilhas, feijão-de-lima, painço, feijão  
mung, aveia, dendê, ervilhas, amendoim, batata, abóbo-  
5 ra-moranga, semente de colza (por exemplo, canola), ar-  
roz, sorgo, soja, beterraba sacarina, cana de açúcar,  
girassol, batata doce, tabaco, trigo e inhame. As  
plantas frutíferas alteradas geneticamente de utilidade  
no processo da presente invenção incluem, sendo que não  
10 se fica limitado às mesmas, maçã, damasco, banana, can-  
talupo, cerejas, uvas, cumquat, limão, lima, laranja,  
papaia, pêssegos, pêra, abacaxi, tangerinas, tomate e  
melancia. De preferência, as plantas são projetadas  
geneticamente para produzir PHA com relação aos proces-  
15 sos expostos em Poirier, Y., D.E. Dennis, K. Klomprens  
e C. Somerville, "Polyhydroxybutyrate, a biodegradable  
thermoplastic, produced in transgenic plants", Science,  
Vol. 256, pp. 520-523 (1992); Publicação de Pedido de  
Patente Mundial N° 95/05472, Somerville, e outros, pu-  
20 blicada em 23 de fevereiro de 1995; e Publicação de Pe-  
dido de Patente Mundial N° 93/02187, Somerville, e ou-  
tros, publicado em 4 de fevereiro de 1993. As plantas  
particularmente preferidas são as plantas da soja, a  
batata, do milho e do coco planejadas geneticamente  
25 para produzir PHA; com maior preferência, a soja.

As bactérias que são de utilidade na pre-  
sente invenção incluem quaisquer bactérias que sejam  
planejadas geneticamente com a finalidade de produzir

PHA, bem como bactérias que produzem o PHA naturalmente. Exemplos dessas bactérias incluem aquelas que se encontram expostas em Novel Biodegradable Microbial Polymers, E.A. Dawes, ed., NATO ASI Series, Series E: Applied Sciences - Vol. 186, Kluwer Academic Publishers (1990); na patente U.S. Nº 5.292.860, Shiotani e Kobayashi, concedida em 8 de março de 1994; na patente U.S. Nº 5.250.430, Peoples e Sinskey, concedida em 5 de outubro de 1993; na patente U.S. Nº 5.245.023, Peoples e Sinskey, concedida em 14 de setembro de 1993; na patente U.S. Nº 5.229.279, Peoples e Sinskey, concedida em 20 de julho de 1993.

Extração de Solvente Facilitada pela Adição de um não-solvente Marginal para PHA

A presente invenção refere-se a um processo para separar poliidroxialcanoato (PHA) a partir de uma biomassa que compreende o PHA, sendo que o processo compreende: a) tratamento da biomassa com um solvente de PHA e um não-solvente marginal para PHA; b) remover qualquer biomassa insolúvel, deixando assim para trás uma solução de PHA e não-solvente marginal; e c) remover o solvente de PHA da solução, resultando dessa maneira em uma suspensão de PHA precipitado no não-solvente marginal para PHA. Opcionalmente, o processo poderá compreender ainda remover o não-solvente marginal para PHA, deixando assim para trás o PHA. A solução que é formada na etapa b) é constituída do não-solvente marginal para PHA dissolvido ou dispersado no

P 19610256

solvente de PHA.

A presente invenção refere-se ainda à suspensão de PHA produzida pelo processo.

De preferência, o solvente de PHA é acetona, acetonitrilo, benzeno, butil acetato, butil propionato,  $\beta$ -butirolactona,  $\gamma$ -butirolactona, dióxido de carbono liqüefeito, clorofôrmio, 1,2-dicloroetano, dietil carbonato, dietilformamida, dimetil carbonato, dimetil succinato, dimetil sulfóxido, dimetilformamida, 1,4-dioxano, acetato de etil, diacetato de etileno glicol, acetato de metil, metil etil cetona, 1,1,2,2-tetracloroetano, tetraidrofurano, 1,1,2-tricloroetano, 1,2,3-tricloropropano, tolueno, xileno, bem como as suas misturas.

Com maior preferência, o solvente de PHA é acetona, acetonitrilo,  $\gamma$ -butirolactona, 1,4-dioxano, acetato de metil, tolueno, metil etil cetona, acetato de etil, ou as suas misturas.

De acordo com um processo ambientalmente mais benigno, o solvente de PHA preferentemente é acetona, acetato de butil, acetato de etil, acetato de metil, ou as suas misturas; com maior preferência acetato ou acetato de etil; e ainda com maior preferência, a acetona.

De preferência, o solvente de PHA é empregado no processo a uma temperatura elevada, uma vez que se constatou que a velocidade de dissolvimento do PHA no solvente de PHA a temperaturas elevadas é substanci-

almente mais rápida. Muito embora a extração do PHA possa ser realizada entre cerca de 20°C e a temperatura de fusão do PHA; com maior preferência entre cerca de 20°C e cerca de 80°C; com maior preferência entre cerca de 45°C e o ponto de ebulição do solvente de PHA; com maior preferência ainda, entre cerca de 50°C até cerca de 60°C.

De preferência, a massa sólida que contém o PHA é agitada durante a extração com o solvente de PHA, uma vez que isto também acelera a velocidade de dissolvimento do PHA.

A remoção do solvente de PHA a partir de uma solução que contém PHA resulta na eventual precipitação do PHA como sólidos cristalinos. No processo de extração do solvente, não obstante, a solução de PHA concentrada forma freqüentemente um fluido de viscosidade muito elevada ou por vezes até um gel; que pode ser extremamente difícil de processar. Na eventualidade da solução conter um não-solvente marginal para PHA que seja relativamente não volátil, o PHA precipitar-se-á quando da remoção do solvente de PHA e formará uma suspensão no não-solvente marginal para PHA.

A presente invenção encontra-se exemplificada na forma esquemática na Figura 1. Este processo possibilita que se obtenham as vantagens de um não-solvente marginal para PHA (por exemplo, óleo) para a precipitação de PHA, mesmo quando o não-solvente marginal para PHA não se encontra presente na biomassa de

partida (por exemplo, biomassa não oleaginosa, ou bactérias). O não-solvente marginal para o PHA funciona como um elemento auxiliar de processo, ao impedir que ocorra a formação de viscosidade excessiva ou a formação de gelatina durante a extração do solvente de PHA a partir da biomassa.

O não-solvente marginal para PHA não deverá interferir significativamente com a potência de solvência do solvente de PHA, uma vez que ele será misturado com o solvente de PHA durante o processo de extração. Por si mesmo, o não-solvente marginal para PHA não deverá dissolver apreciavelmente o PHA, uma vez que o dissolvimento do PHA impedirá a suspensão do PHA como partículas distintas. De preferência, o não-solvente marginal para o PHA é menos volátil (isto é, possui um ponto de ebulição mais baixo) do que o solvente de PHA. Essa volatilidade mais baixa proporcionará a separação mais fácil e mais limpa do solvente de PHA. De preferência, o ponto de ebulição do não-solvente marginal para o PHA é pelo menos cerca de 5°C mais elevado do que o solvente de PHA; com maior preferência, pelo menos cerca de 10°C mais elevado; com maior preferência ainda, pelo menos cerca de 20°C mais elevado; e ainda com maior preferência. Pelo menos cerca de 40°C mais elevado.

Com maior preferência, o não-solvente marginal adequado para o PHA é um álcool C3-C20, alceno C1-C20, gordura, lipídio neutro, óleo, água, ou as suas



P 19510258

misturas.

Os alcanos preferidos incluem decano, dodecano, hexadecano, e octadecano.

Os álcoois preferidos incluem hexanol, álcool de lauril, octanol, álcool de oleil, e álcool de estearil.

As gorduras preferidas incluem sebo, gordura e cera.

Os lipídeos neutros preferidos incluem mono-, di- e triglicéridas de ácido oléico, ácido linoléico e ácido linelênico; ácido láurico; ácido esteárico; e ácido palmítico.

Os óleos preferidos incluem óleos minerais e óleos vegetais (por exemplo, soja, canola e outros assemelhados).

As concretizações descritas anteriormente da presente invenção são dotadas de muitas vantagens surpreendentes, incluindo evitar a formação de fluido de alta viscosidade ou gel de PHA, que de outro modo pode ser extremamente difícil de processar. Isto é alcançado pela condução da extração do PHA na presença do não-solvente marginal para PHA. O não-solvente marginal para PHA poderá servir inicialmente como um co-solvente misturável para promover a extração do PHA. Não obstante, quando da remoção do solvente de PHA relativamente volátil, o não-solvente marginal para o PHA tornar-se-á um meio de suspensão efetivo para precipitação do PHA (na forma de partículas distintas) em de-

P 19810356

corrência do seu poder de solvência de PHA limitada. Em comparação com uma solução concentrada, uma suspensão de polímero sólido em um não-solvente fluido tipicamente é dotada de uma viscosidade aparente muito mais baixa e, desta maneira, possui capacidade de processamento superior. A eliminação do problema sério de formação de gel freqüentemente encontrado durante a extração do solvente a partir de uma solução de polímero concentrada é uma vantagem inesperada e significativa da invenção.

Uma outra vantagem surpreendente proporcionada pelo presente processo, reside na sua capacidade de produzir suspensões de PHA que podem ser utilizadas, por exemplo, na forma de revestimentos, de aglutinantes, de aditivos para tintas, de alimentos, de adesivos; bem como na forma de veículos para corantes, pigmentos, bioaditivos e perfumes.

Uma vantagem surpreendente adicional é encontrada em determinadas concretizações da presente invenção que têm a capacidade de extrair PHA de alta temperatura de fusão cristalizável, sem a utilização de solvente que contêm halógenos. Os solventes de PHA relativamente benignos ambientalmente utilizados nessas concretizações da invenção, tais como acetona e acetato de etil, são econômicos, seguros e facilmente disponíveis, mesmo a partir de fontes renováveis. Esses solventes de PHA também são considerados muito menos danosos para o ambiente, especialmente a camada de ozono da

P19810258

terra, em comparação com os compostos que contêm halógenos utilizados tipicamente para a extração de PHA a partir de bactérias.

Adicionalmente, a descoberta da utilidade de determinadas substâncias que são utilizadas neste contexto, que eram anteriormente desconhecidas como sendo de utilidade como solventes de polímeros cristalinos que são dotados de temperaturas de fusão relativamente elevadas, não é uma tarefa trivial. Diferentemente da maior parte dos compostos de baixo peso molecular e dos polímeros amorfos não-cristalizáveis, a solubilidade dos polímeros cristalinos não pode ser prevista a partir dos critérios simples comumente utilizados, tais como a similaridade de arquitetura química ou casamento de índices de refração, constantes dielétricas ou parâmetros de solubilidade. Um bom exemplo para a incapacidade de prever a solubilidade dos polímeros cristalinos é a amplamente conhecida insolubilidade de polietileno linear em hexano, onde ambos os compostos são feitos das unidades de repetição de hidrocarbonetos idênticas. De forma assemelhada, os poliésteres alifáticos cristalinos como poli(3-hidroxibutirato) isotático e poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) não são apreciavelmente solúveis em acetato de etil ou acetona, mesmo que as estruturas químicas destes compostos possam sugerir determinada afinidade molecular. Desta maneira, a descoberta fortuita de que PHA cristalino que contém uma pequena quantidade de ramificações de

P 19810258

dimensão média pode ser facilmente dissolvido nesses solventes é certamente surpreendente.

Os exemplos que se expõem em seguida descrevem e demonstram adicionalmente concretizações preferidas dentro do escopo da presente invenção. Os  
5 exemplos são dados tão somente com o propósito de ilustração, e não devem ser considerados como limitações da presente invenção, uma vez que muitas variações dos mesmos são possíveis sem com isso se escapar do seu espírito e escopo.  
10

#### Exemplo 1

##### Extração de PHA a partir de Aeromonas caviae

O procedimento seguinte aperfeiçoa o processo de isolamento de PHA a partir de Aeromonas caviae, tal como exposto na patente U.S. Nº 5.292.860, Shioti e Kobayashi, concedida em 8 de março de 1994. Centrifuga-se uma carga de fermentação de Aeromonas caviae, lava-se com água e metanol, e seca-se a vácuo para render 120 g de célula seca. A biomassa de células secas  
15 é então colocada em um recipiente fechado com uma mistura de 800 ml de clorofórmio e 200 ml de dodecano durante 5 horas a 50°C. A biomassa de sólidos insolúveis é então removida pela utilização de um filtro de malha de arame. Remove-se então o clorofórmio da mistura de  
20 solução sob pressão reduzida a 50°C e coleta-se com um condensador refrigerado a água para uso posterior. A remoção de clorofórmio resulta na formação de uma suspensão que compreende flocos sólidos de poli(3-

P 19610258

hidroxibutirato-co-3-hidroxiexanoato) dispersados no dodecano remanescente. Os flocos são separados em relação ao dodecano utilizando-se um filtro de malha fina, lavados rapidamente com clorofórmio gelado e secados para render 7 g de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxiexanoato).

### Exemplo 2

#### Extração de PHA a partir de Alcaligenes eutrophus

O procedimento exposto em seguida aperfeiçoa o processo para isolamento de PHA a partir de Alcaligenes eutrophus tal como exposto na patente U.S. Nº 4.562.245, Stageman, concedida em 1 de dezembro de 1985. Fazem-se refluir células de Alcaligenes eutrophus secadas por pulverização que contêm poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) em metanol durante 15 minutos sob pressão atmosférica para remover os lipídeos solúveis. As células são secadas em uma bandeja a 30°C em um túnel de ar forçado. Fazem-se refluir 10 g de células secas com uma mistura de 250 ml de clorofórmio e 50 ml de hexadecano sob pressão atmosférica durante 30 minutos para extrair poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato). As pastas fluídas resultantes são filtradas para remover os resíduos de células. O clorofórmio é então removido da solução de extração sob uma pressão reduzida, deixando assim para trás uma suspensão de flocos sólidos duros de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) dispersados em hexadecano. Os flocos são então coletados pela

P19610256

drenagem do hexadecano para produzir 6,2 g de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato).

### Exemplo 3

#### Extração de PHA a partir de Pseudomonas cepacia

5 O procedimento seguinte aperfeiçoa o processo para isolar PHA a partir de Pseudomonas cepacia tal como exposto no Pedido de Patente Mundial 92/18553, publicado em 29 de outubro de 1992. Células de Pseudomonas cepacia que contêm copolímero que consiste prin-  
10 cipalmente de 3-hidroxi octanoato são centrifugadas, decantadas e novamente colocadas em suspensão em água quatro vezes, e então são secadas por congelamento. Fazem-se refluir 10 g de células secadas com uma mistura de 250 ml de acetona e 50 ml de 1-hexanol sob pres-  
15 são atmosférica durante 20 minutos, para extrair o copolímero 3-hidroxi octanoato. As pasta fluidas resultantes são filtradas para remover os resíduos de células. A acetona é então removida da solução de extração sob uma pressão reduzida, deixando assim para trás uma  
20 suspensão de partículas de copolímero de 3-hidroxi octanoato sólidas, macias, dispersadas em 1-hexanol. Os flocos são então coletados por drenagem de hexadecano para produzir 4,8 g de copolímero.

### Exemplo 4

#### 25 Extração de PHA a partir de Batata

Colocam-se 60 g de batata transgênica (produzida, por exemplo, pelo processo exposto na Publicação de Pedido de Patente Mundial N° 95/05472, So-

P19510258

merville e outros, publicada em 23 de fevereiro de 1995; ou Publicação de Pedido de Patente Mundial Nº 93/-2187, Somerville e outros, publicado em 4 de fevereiro de 1993, a amostra compreendendo poli(3-  
5 hidroxibutirato-co-3-hidroxiheptanoato) que contém 7,5% de unidades de repetição de 3-hidroxiheptanoato, em um recipiente fechado carregado com 600 ml de acetona e 150 ml de óleo vegetal e agitada durante 3 horas a 55°C. A solução de acetona que contém o óleo e PHA é  
10 então drenada a partir da batata utilizando-se um filtro de malha de arame. A solução de extração que contém óleo vegetal, poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxiheptanoato) e acetona é colocada em uma caldeira para evaporar a acetona volátil, que é coletada por  
15 meio de um condensador refrigerado a água. Depois da remoção da acetona, flocos sólidos de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxiheptanoato) aparecem no óleo remanescente que são drenados pela utilização de um filtro de malha fina para produzir 7 g de óleo vegetal  
20 puro. Os flocos de polímero são lavados com acetona fria, previamente coletada pelo condensador, para remover o óleo residual arrastado e, então, secados para render 6 g de sólido de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxiheptanoato) cristalino. A acetona utilizada para  
25 a lavagem, é combinada com o óleo vegetal, e então utilizada para ulterior extração de poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxiheptanoato).

Todas as publicações, patentes concedidas,

P19610258

e pedidos de patente mencionados anteriormente ficam incorporados neste contexto na sua totalidade por referência.

5 Compreende-se que os exemplos e concretizações descritos neste contexto têm propósito meramente ilustrativo e que várias modificações ou alterações à luz das mesmas serão sugeridas àqueles versados na técnica e destinam-se a ficar incluídas no espírito e campo de ação das reivindicações anexas.



REIVINDICAÇÕES

1 - Processo para separar poliidroxiálcanoato a partir de uma biomassa que compreende o poliidroxiálcanoato, sendo o processo caracterizado por:

- 5           a) tratar uma biomassa com um solvente de poliidroxiálcanoato e um não-solvente marginal para o poliidroxiálcanoato;
- b) remover qualquer biomassa insolúvel, deixando assim para trás uma solução de
- 10           poliidroxiálcanoato e de não-solvente marginal para poliidroxiálcanoato; e
- c) remover o solvente de poliidroxiálcanoato a partir da solução, resultando desta maneira em uma suspensão de poli-
- 15           idroxiálcanoato precipitado no não-solvente marginal para poliidroxiálcanoato.

2 - Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende ainda

20   remover o não-solvente marginal para poliidroxiálcanoato, deixando assim para trás o poliidroxiálcanoato.

3 - Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o solvente de poliidroxiálcanoato é selecionado

25   a partir do grupo que consiste de acetona, acetonitrilo, benzeno, butil acetato, butil propionato,  $\beta$ -butirolactona,  $\gamma$ -butirolactona, dióxido de carbono liquefeito, clorofórmio, 1,2-dicloroetano, dietil carbo-

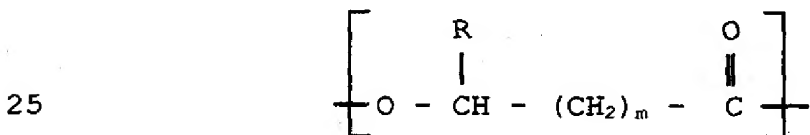
P 19610258

nato, dietilformamida, dimetil carbonato, dimetil succinato, dimetil sulfóxido, dimetilformamida, 1,4-dioxano, acetato de etil, diacetato de etileno glicol, acetato de metil, metil etil cetona, 1,1,2,2-  
5 tetracloroetano, tetraidrofurano, 1,1,2-tricloroetano, 1,2,3-tricloropropano, tolueno, xileno, bem como as suas misturas.

4 - Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato  
10 de que o não-solvente marginal para poliidroxiálcanoato é selecionado a partir do grupo que consiste de álcool C3-C20, alcano C1-C20, gordura, lipídeo neutro, óleo, água, bem como as suas misturas.

5 - Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato  
15 de que a biomassa está na forma de bactérias ou de material de plantas.

6 - Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato  
20 de que o poliidroxiálcanoato compreende a seguinte unidade de repetição:

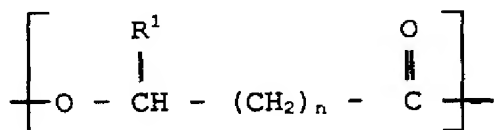


em que R é preferentemente H, alquila ou alquenila; e m varia entre cerca de 1 até cerca de 4.

7 - Processo, de acordo com qualquer uma

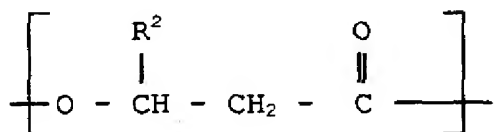
P 19610256

das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que p poliidroxiálcanoato compreende pelo menos duas unidades de monômero que se repetem aleatoriamente, em que a primeira unidade de monômero que se repete aleatoriamente é dotada da estrutura



10

em que  $\text{R}^1$  é H, alquila C1 a C2, e n é 1 ou 2; a segunda unidade de monômero que se repete aleatoriamente é dotada da estrutura



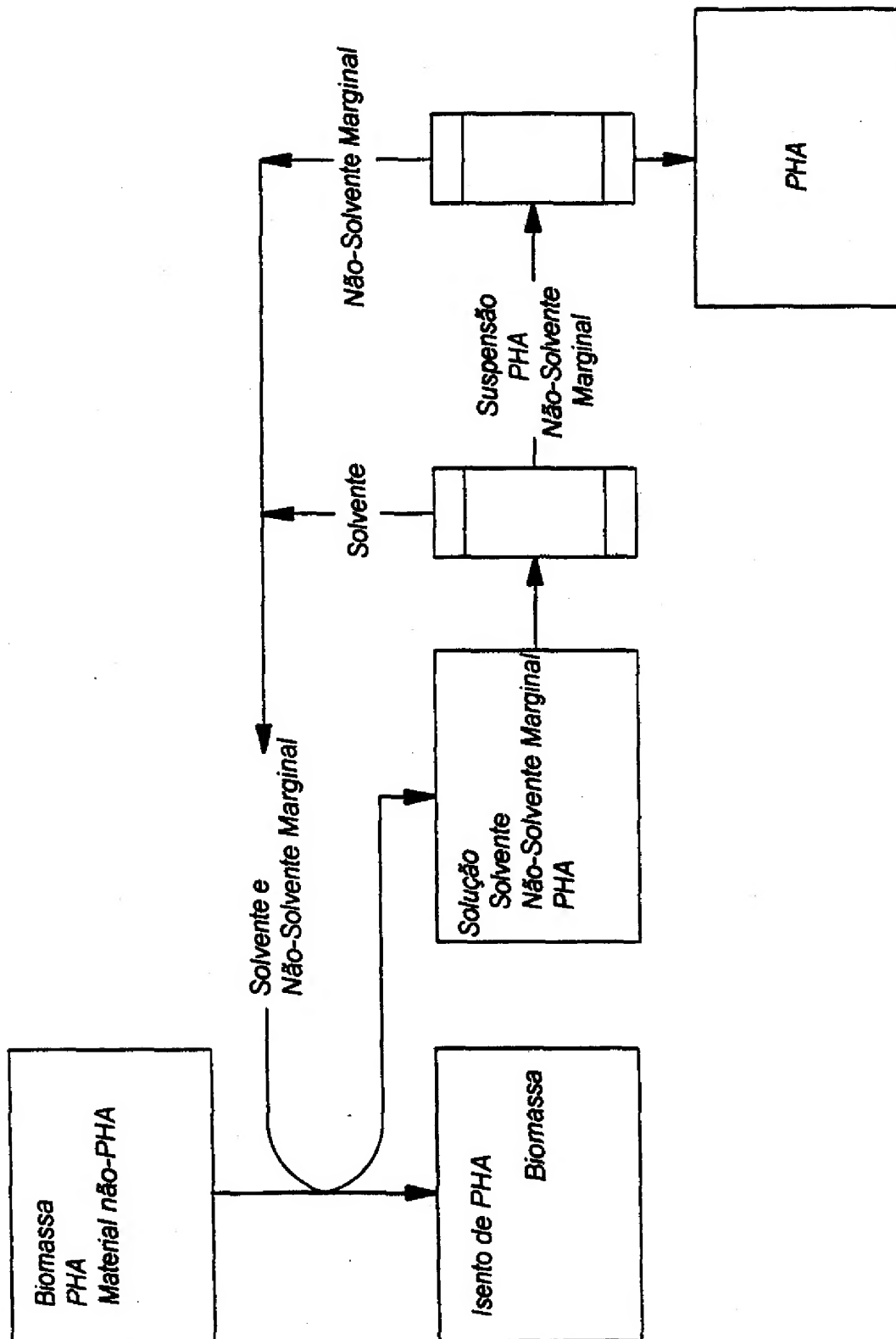
15

em que  $\text{R}^2$  é alquila C3 a C19 ou alquenila C3 a C19; e em que pelo menos 50% das unidades de monômero de repetição aleatoriamente têm a estrutura da primeira unidade de monômero de repetição aleatoriamente.

8 - Suspensão de poliidroxiálcanoato precipitado, caracterizada pelo fato de ser separada por meio do processo de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes.

9 - Poliidroxiálcanoato, caracterizado pelo fato de ser separado por meio do processo de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes.

P 1961256



P 19610256

RESUMO

EXTRAÇÃO DE SOLVENTE DE POLIIDROXIALCANOATOS A PARTIR  
DE BIOMASSA, FACILITADA PELA UTILIZAÇÃO DE UM NÃO-  
SOLVENTE MARGINAL PARA PHA

5                   A presente invenção refere-se a um processo para separar poliidroxicanoato (PHA) a partir de uma biomassa que compreende o PHA, sendo que o processo compreende: (a) tratar a biomassa com um solvente de PHA e um não-solvente marginal para PHA; (b) remover  
10 qualquer biomassa insolúvel, deixando atrás desta maneira uma solução de PHA e não-solvente marginal para PHA; e (c) remover o solvente de PHA da solução, resultando desta maneira em uma suspensão de PHA precipitado no não-solvente marginal para PHA. Opcionalmente, o  
15 processo compreende ainda remover o não-solvente marginal para PHA, deixando atrás desta maneira o PHA. A presente invenção refere-se ainda à suspensão e ao PHA produzido pelo processo.